

**WEST****End of Result Set**

Generate Collection

Print

L1: Entry 1 of 1

File: DWPI

DERWENT-ACC-NO: 1972-47513T

DERWENT-WEEK: 197230

COPYRIGHT 2002 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Strong collagen fibres - using perfluoric acid, pref perfluorobutyric acid to swell the cleaned mammal sinews

## PATENT-ASSIGNEE:

ASSIGNEE

CODE

ETHICON INC

ETHI

PRIORITY-DATA: 1958US-0768969 (October 22, 1958), 1957US-0695760 (November 12, 1957)

## PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
DE 1694509 B			000	
DE 1694509 A	June 3, 1971		000	

INT-CL (IPC): C08H 7/00; D01C 3/00; D01F 5/00

ABSTRACTED-PUB-NO: DE 1694509B

## BASIC-ABSTRACT:

Collagen fibres with high strength, suitable for surgical processes, are prepd. with little loss through degradation, by cleaning mammal sinews from fat, non-collagen albumen and other matter and removing elastin by enzyme treatment, and soluble proteins and lipoids by treatment with chelating agents. The clean sinews are cut into discs across the length of the sinew and are swollen by treatment with an aq. soln. of a 2-8C perfluoric acid  $\text{CF}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ , where n is 0-6. The pref. acid is perfluorobutyric acid, pref. is 50% aq. methanol. The acid is used at 0.2-1%, referred to all solvents. The pH is 2-3 and the content of collagen pref. 1%.

TITLE-TERMS: STRONG COLLAGEN FIBRE ACID PREFER ACID SWELLING CLEAN MAMMAL SINEW

DERWENT-CLASS: D22 F06

CPI-CODES: D09-D; F01-C; F01-E; F04-E04;

(51)

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

Int. Cl.:

D 01 c

D 01 f

DEUTSCHES PATENTAMT



(52)

Deutsche Kl.: 29 b, 1/10

29 b, 3/57

(10)

(11)

(21)

(22)

(43)

**Offenlegungsschrift 1 694 509**

Aktenzeichen: P 16 94 509.8 (E 34298)

Anmeldetag: 11. November 1958Offenlegungstag: 3. Juni 1971

Ausstellungspriorität: —

(30)

Unionspriorität

(32)

Datum:

12. November 1957

22. Oktober 1958

(33)

Land:

V. St. v. Amerika

(31)

Aktenzeichen:

695760

768969

(54)

Bezeichnung:

Verfahren zur Herstellung einer Kollagendispersion  
als Ausgangsmaterial für strangähnliche Kollagenerzeugnisse

(61)

Zusatz zu:

—

(62)

Ausscheidung aus:

1 417 368

(71)

Anmelder:

Ethicon, Inc., Somerville, N. J. (V. St. A.)

Vertreter:

Licht, M., Dipl.-Ing.; Schmidt, R., Dr.;  
Hansmann, A., Dipl.-Wirtsch.-Ing.; Herrmann, S., Dipl.-Phys.;  
Patentanwälte, 8000 München und 7603 Oppenau

(72)

Als Erfinder benannt:

Griset, Ernest Jack, New Brunswick;  
Reissmann, Thomas Lincoln, Bound Brook;  
Nichols, Joseph, Princetown; N. J. (V. St. A.)

Benachrichtigung gemäß Art. 7 § 1 Abs. 2 Nr. 1 d. Ges. v. 4. 9. 1967 (BGBl. I S. 960): 18. 11. 1969

DT 1 694 509

P A T E N T A N W Ä L T E

Patentanwalt Dr. R. SCHMIDT, 7603 OPPENAU, Postfach 25

P 16 94 509.8

Ethicon, Inc.

Dipl.-Ing. MARTIN LICHT

Dr. REINHOLD SCHMIDT

Dipl.-Wirtsch.-Ing. AXEL HANSMANN

Dipl.-Phys. SEBASTIAN HERRMANN

Oppenau, den 9.3.1970

Mein Zeichen: 4386  
Dr. Sch/H

1694509

Verfahren zur Herstellung einer Kollagendispersion

als Ausgangsmaterial für strangähnliche Kollagenerzeugnisse

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von Kollagendispersionen aus aufgequollenen Kollagenfibrillen, aus denen im wesentlichen das sterile Kollagenfadenmaterial für chirurgische Zwecke besteht, welches den Gegenstand der gleichlaufenden Anmeldung G 25 682 IVa/301 der Anmelderin bildet.

Bei der Herstellung homogener Dispersionen solcher aufgequollenen Kollagenfibrillen, die zum Strangpressen und Verspinnen geeignet sind, ist es wichtig, daß die natürlichen Verunreinigungen in den Säugetiersehnern entfernt werden und die Abtrennung der natürlichen Kollagenfasern unter solchen Bedingungen erfolgt, daß eine Lösung oder ein Abbau der Kollagenfibrillen vermieden wird. Die Reißfestigkeit des ausgepreßten Produktes ist von der Beibehaltung der natürlichen Kollagenfaserstruktur abhängig.

./.

Für die schonende Verarbeitung des tierischen Haut- oder Sehnenmaterials hat man bereits das zerkleinerte tierische Material etwa bei Zimmertemperatur in einer wässrigen Säurelösung quellen gelassen, dispergiert und auf mechanischem Wege homogenisiert, worauf die Dispersion dann durch Strangpressen oder Verspinnen verformt wurde. Als Säure zum Dispergieren des Materials verwendete man in der Regel Salzsäure, wobei zwar thermische und chemische Abbauvorgänge in gewissem Maße zurückgedrängt werden konnten, ohne daß es jedoch gelungen wäre, den Fibrillen in einem für die Festigkeitseigenschaften der Enderzeugnisse wünschenswerten Maße ihre natürliche Form und ihre ursprünglichen mechanischen Eigenschaften zu erhalten.

Es wurde nun gefunden, daß es möglich ist, durch Verwendung von Perfluorsäure mit 2 bis 8 Kohlenstoffatomen der Formel  $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n\text{COOH}$ , in der n eine ganze Zahl zwischen 0 und 6 bedeutet, beim Quellen und Dispergieren Kollagendispersionen herzustellen, in denen ein erheblich geringerer Abbau des Kollagenmaterials eintritt, als es in den sauren bisher verwendeten Quellmitteln, z.B. in verdünnter Salzsäure der Fall ist. Demgemäß weist auch das beim anschließenden Verspinnen der erfindungsgemäß bereiteten Kollagendispersion gewonnene Fadenmaterial wesentlich günstigere Festigkeitswerte auf.

./.

Besonders gute Ergebnisse liefert eine Behandlung, bei der zum Quellen eine wässrige Lösung von Perfluorbuttersäure in einer Konzentration von 0,2 bis etwa 1 %, bezogen auf das Gesamtgewicht der Lösung, mit einem pH-Wert von 2 bis 3, gegebenenfalls unter Zusatz von Methanol, verwendet wird, wobei der Gehalt an tierischen Sehnen vorzugsweise bei 1 % liegt.

Im folgenden wird die Erfindung an Hand einiger Ausführungsbeispiele beschrieben, wobei zunächst die der Herstellung der Kollagendispersion vorangehende Vorbehandlung des Rohmaterials in großen Zügen geschildert wird.

Als Rohmaterial dienen in erster Linie Säugetiersehnen, aber auch Walfischteile, sowie Schweine-, Schafs- und Ochsensehnen sind geeignet. Die besten Ergebnisse wurden bis jetzt durch Verwendung der unteren Beugemuskelsehne des Rindviehs erhalten.

Die Ochsensehnen werden von der Aufbewahrungsstelle in gefrorenem Zustand angeliefert, um eine Zersetzung oder Zerstörung zu verhindern, und aufgetaut, um die Sehne von Fett, nicht-kollagenem Protein und anderen Fremdstoffen zu säubern. Die gereinigte Sehne wird in gefrorenem Zustand in Scheiben von etwa 0,025 bis 0,064 cm (10 bis 25 Tausendstel Zoll) geschnitten. Dickere Scheiben quellen langsam in wässriger saurer Lösung und sind schwer zu

./.

dispergi ren. Dünnere Scheib n dispergieren leichter, aber die Dispersion hat geringe Reißfestigkeit, wenn sie gespritzt wird. Vorzugsweise wird die Sehne quer zur Hauptachse geschnitten, da ein Schneiden in der Längsrichtung zu einer langsameren Aufquellung führt. Eine aliquote Probe der geschnittenen Sehne wird nun auf Gesamtfeststoffe analysiert, da die in der Sehne enthaltene Feuchtigkeit von verschiedenen Lieferanten und zu verschiedenen Zeiten nicht konstant ist.

Die in Scheiben geschnittene Sehne wird dann mit einer Enzymlösung behandelt, um das Elastin (elastische Gerüsteiweiß der Sehnen- und Blutgefäßwände) zu lösen, das die natürlichen Kollagenfasern umschließt und zusammenhält. Durch diese Behandlung wird im wesentlichen das gesamte Elastin gelöst und kann entfernt werden. Es können mit Vorteil proteolytische Enzyme pflanzlichen oder tierischen Ursprungs verwendet werden. Das Pankreatin ist ein Enzym, das zur Entfernung des Elastins wirksam geeignet ist. Es können auch Enzyme aus Pflanzen, wie z.B. Ficin, verwendet werden. Ein anderes Enzym, das diese Funktion erfüllt, ist dasjenige, das durch Extraktion käuflicher Malzdiastase mit Wasser hergestellt werden kann (USA-Pharmakopöe IX).

Die Sehnen-Enzymmischung wird 15 bis 20 Stunden auf Raumtemperatur gehalten. Durch diese Behandlung wird im wesentlichen alles Elastin von den natürlichen Kollagenfasern abgetrennt.

Nach der Enzymbehandlung werden die Sehnenscheiben mit Wasser gewaschen. Lösliche Proteine und Lipide werden durch Behandlung der Scheiben mit einer verdünnten wässrigen Lösung eines Chelat bildenden Reagens, z.B. Äthylendiamintetranatriumtetraacetat, entfernt. Nach dieser Behandlung werden die Sehnenscheiben wieder gewaschen, um anhaftende Spuren des Chelat bildenden Reagens zu entfernen.

Die gereinigten Sehnenscheiben enthalten einen hohen Prozentsatz an reinem Kollagen, das mit Stoffen verbunden ist, die nicht in saurer Lösung aufquellen. Die nächste Stufe besteht in der Aufquellung dieses Kollagens in einer sauren Lösung zur Herstellung einer homogenen Dispersion von Kollagenfasern. Es ist sehr wichtig, daß man die Kollagenscheiben während der Aufquellungsstufe nicht zusammenwachsen läßt. Wenn das Kollagen aufquellt, wird es klebrig, und wenn man einzelne Kollagenscheiben zusammenkleben läßt, kommt das Innere der erhaltenen Masse nicht in Berührung mit der Quellungslösung. Daher ist es zweckmäßig, das Zusammenwachsen der einzelnen Sehnenscheiben zu verhindern, um eine homogene Faserdispersion in einer angemessenen Zeit zu erhalten.

In einem mit Rührwerk versehenen Dispergierkessel werden die Kollagenscheiben langsam im sauren Verteilungsmedium verrührt, wobei die Kollagenscheiben die saure Lösung unter Quellung absorbieren.

/.

Die Temperatur besitzt einen kritischen Faktor nach dem Zusatz der Säure zu den Sehnenscheiben, da das Kollagen in Anwesenheit von Säuren bei etwa  $30^{\circ}$  und darüber abgebaut wird. Aus diesem Grunde müssen alle dem Säurezusatz nachfolgenden Behandlungsstufen bei einer Temperatur unter etwa  $25^{\circ}$  durchgeführt werden.

Als Quellungslösung dient Perfluorsäure der Formel  $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n\text{COOH}$ , in der n eine ganze Zahl zwischen 0 und 6 bedeutet. Am zweckmäßigsten verwendet man Perfluorsäuren mit wenigstens zwei, aber nicht mehr als 8 Kohlenstoffatomen zur Herstellung der Kollagen dispersion. Das dispergierte Kollagen ist weniger widerstandsfähig gegen Zersetzung, wenn eine Perfluorsäure mit weniger als 4 Kohlenstoffatomen verwendet wird; andererseits ist bei einer Perfluorsäure von mehr als 6 Kohlenstoffatomen die Wasserlöslichkeit der Perfluorsäure so verringert, daß Methanol zur Lösung zugesetzt werden muß, um die Quellung durch die Perfluorsäure zu steigern. Sehr bewährt hat sich Perfluorbuttersäure. Die Menge der Säure kann mit dem Äquivalentgewicht der Säure und ihrer Ionisierungskonstanten variieren. Im allgemeinen wird jedoch ein Säuregehalt von etwa 0,20 % bis etwa 1 %, bezogen auf das Gesamtgewicht der Lösung, verwendet. Das zweckmäßige pH beträgt 2 bis 3.

Es ist sehr schwierig, eine Kollagendispersion von mehr als 2 % Kollagen herzustellen, da konzentriertere Dispersen in

./.



extrem hohe Viskosität besitzen. Wenn die zur Verwendung kommt und Kollagendispersion zum Pressen oder Spritzen endloser Fäden benutzt wird, soll die Menge an Sehne in der Quellungslösung vorzugsweise bei 1 % liegen. Eine Dispersion aus Kollagenfasern mit einem Feststoffgehalt unter 0,8 % ist schwierig zu verspinnen. Andererseits hat eine Konzentration an Kollagenfasern von über 1 % in einer Suspension zur Folge, daß sie schwieriger zu spritzen ist. Von gleicher Bedeutung ist die Schwierigkeit, eine homogene Dispersion zu erhalten, wenn der Gesamtfeststoffgehalt zu hoch liegt. Es ist außerordentlich wichtig, daß die zu spritzende Kollagenfibrillendispersion homogen ist, da eine geringe Änderung in der Feststoffkonzentration des zu spritzenden Stoffes große Unterschiede im Querschnitt des Endproduktes zur Folge hat.

Nachdem die Quellung im Dispersionsbehälter zum großen Teil erfolgt ist, wird die Suspension durch wiederholtes Umpumpen mittels einer rotierenden Meßpumpe aus rostfreiem Stahl (z.B. eine Zenithpumpe) homogenisiert, wobei der Druck auf einer Meßuhr kontrolliert und zwischen etwa 14,06 at am Anfang und 4,22 bis 5,62 at am Ende der Homogenisierungsstufe gehalten wird. Am Ende der Homogenisierungsstufe ist der Druck zwischen der Pumpe und der 0,13 cm weiten Düse ziemlich konstant und liegt bei 4,22 bis 5,62 at. Zu dieser Zeit liegt die Durchflußmenge der Düsen bei nahezu 450 cm<sup>3</sup>/Minute.

./.

Die Dispersion enthält nach der Homogenisierung noch Fasern ungequollenen, nicht kollagenhaltigen Materials, das die Mehrlochdüse verstopfen würde und entfernt werden muß. Dies wird leicht dadurch bewirkt, daß man die Dispersion unter Druck durch ein Plattenfilter hindurchpreßt, das die nichtkollagenen Stoffe zurückhält.

Die Kollagenfaserdispersion wird unmittelbar nach der Filtration als "grüne Dispersion" bezeichnet, da Versuche, dieses Produkt ohne Nachhärtung zu spinnen, ein übermäßiges Brechen des gesponnenen endlosen Fadens zur Folge haben. Wenn jedoch die Dispersion eine zu lange Zeit bei Raumtemperatur steht, tritt ein Abbau des Kollagens ein, und die Dispersion bildet Fäden geringerer Reißfestigkeit, wenn sie zu alt ist. Unter optimalen Bedingungen wird die Kollagenlösung bei Raumtemperatur (etwa 25°) bei einer Zeitdauer von ungefähr 24 Stunden gealtert und dann im Kühlschrank bei 5° aufbewahrt, bis sie zum Spinnen verwendet wird. Die Kollagen dispersion wird im Kühlschrank 3 bis 4 Wochen bis zum Spinnen aufbewahrt.

Die Herstellung der Dispersion aus reinen gequollenen Kollagenfasern wird nach dem oben geschilderten Verfahren durchgeführt, um alle Verunreinigungen zu beseitigen, da irgendein mangelnder Zusammenhang der Masse zu Brüchen in den Einzelfäden während des

./.

Spinnverfahrens führt. Sogar winzige Luftblasen verursachen Brüche in den Einzelfäden, und es ist daher notwendig, die gesamte Luft aus der Dispersion kurz vor der Verwendung zu entfernen. Dies kann in bequemer Weise dadurch bewirkt werden, daß man die Dispersion kurz vor dem Verspinnen in einen großen Vakuumexsikkator stellt und 2 oder 3 Stunden ein Vakuum von etwa 15 mm Quecksilbersäule anlegt. Die Anwesenheit einer Flüssigkeit mit einem geringen Dampfdruck in der wäßrigen Dispersion, wie z.B. Methanol, unterstützt die Entfernung von Luftblasen. Methanol ist ein vorzügliches Zusatz-Lösungsmittel wegen seines niederen spezifischen Gewichts. Ungefähr 50 Volumprozent Methanol werden der Kollagendispersion vorteilhafterweise zugesetzt. Die Verwendung größerer Mengen führt zu Schwierigkeiten beim Aufquellen der Kollagenfasern und führt zu einer Dispersion, die schwer zu homogenisieren und zu spritzen ist. Eine wäßrige Dispersion ohne ein zusätzliches Lösungsmittel erfordert eine längere Zeit, um vollständig unter Vakuum entlüftet zu werden.

#### B e i s p i e l e

- 1) Teile unterer Beugemuskelsehnen des Rindviehs werden senkrecht zu ihrer Längsachse in eine Dicke von etwa 0,038 bis 0,064 cm geschnitten und nach Untersuchung auf den Gesamtfeststoffgehalt mit einer Enzymlösung behandelt, um das Elastin zu lösen. Die Enzymlösung wird durch Rühren von 40 Teilen Malzdiastase mit

./.

400 Teilen Wasser in 10 Minuten hergestellt. Die homogene Dispersion wird mit 2000 Umdrehungen/Minute 20 Minuten lang zentrifugiert und die klare wässrige Lösung der Zentrifugierungsstufe unter Vakuum durch ein sogenanntes "Celit"-Geflecht (ein inertes analytisches keramisches Filtermaterial) filtriert. Das Filtrat, das gewöhnlich leicht sauer ist, wird auf ein pH 7 mit wenigen Tropfen verdünnter Natronlauge eingestellt. Dann wird der neutralen Enzymlösung destilliertes Wasser zugesetzt, um das Gesamtvolumen auf 1200 Teile zu bringen. 400 Teile der in Scheiben geschnittenen Sehne werden in diese Lösung eingetaucht, die dann mit einer Toluolschicht bedeckt wird, um ein Schimmelpilzwachstum zu verhindern. Die Sehnen-Enzymmischung wird im Brutforn bei 37,5° über Nacht (15 bis 20 Stunden) aufbewahrt.

Nach der Brutfornbehandlung werden die Sehnenscheiben 3 oder 4 mal durch Dekantieren mit destilliertem Wasser gewaschen und dann mit 1000 Teilen Wasser mit 4 g Äthylendiamintetranatriumtetraacetat ("Versene") behandelt. Diese Mischung wird nahezu 2 Stunden bei 37,5° im Brutforn gehalten, um lösliche Proteine und Lipide zu entfernen. Anschließend an diese Behandlung mit Äthylendiamintetranatriumtetraacetat wird das pH, wenn erforderlich, wieder auf 7 eingestellt, da die Sehnenscheiben leichter in neutraler Lösung zu behandeln sind (geringere Auf-

./.

quellung und Hydratation. Die Sehnenstücke werden wieder durch Dekantierung mit 5 bis 6maligem Wechsel des destillierten Wassers gewaschen.

Die Quellungslösung besteht aus 50 % wässrigem Methanol von etwa 0,35 %, bezogen auf das Gesamtlösungsmittelgewicht von Perfluorbuttersäure. Im allgemeinen ist die Kollagendispersion mit etwa 1 % Feststoffkonzentration leicht zu behandeln, und die Menge der sauren Quellungslösung kann leicht aus dem Gewicht und dem Feststoffgehalt der verwendeten Sehne berechnet werden. So besitzen z.B. die geschnittenen verwendeten Sehnen zur Bereitung der vorliegenden Lösung 33 % Feststoffe (67 % Feuchtigkeit) und das Gesamtgewicht des Kollagens und der festen Verunreinigung beträgt nahezu

$$400 \text{ Teile} \times 33 \% = 132 \text{ Teile.}$$

Bei der Berechnung der Menge der erforderlichen Sehne zur Bereitung der Dispersion bekannter Konzentration muß das Gewicht der Sehnenfeststoffe (bezogen auf trockene Basis) mit dem Faktor 1,1 multipliziert werden zur Korrektur der nichtkollagenen Stoffe, die in der Sehne enthalten sind. Dieses Material wird durch die saure Lösung nicht gequollen und muß aus der Dispersion entfernt werden. Das Gesamtgewicht einer 1-%igen Dispersion aus 132 Teilen Sehne beträgt daher

$$132 \text{ Teile} \times \frac{100 \%}{1,1 \%} = 12000 \text{ Teile.}$$

./.

Das Gesamtgewicht der gequollenen Lösung beträgt

$$12000 \text{ Teile} - 132 \text{ Teile} = 11868 \text{ Teile.}$$

Infolge des Wassergehalts der Sehne, die bei dieser Verfahrensstufe ein Naßgewicht von 2145 Teilen besitzt, ist ein Überschuß von Methanol über Wasser erforderlich, um eine echte 50-%ige Lösung herzustellen. Die saure Lösung wird durch Mischen von 6000 Teilen Methanol ( $\frac{12000}{2}$ ) mit 3987 Teilen destilliertem Wasser ( $6000 \text{ Teile} - [2145 \text{ Teile} - 132 \text{ Teile}]$ ) hergestellt. Dieser wässrigen Methanollösung werden 42 Teile Perfluorbuttersäure ( $12000 \times 0,35 \%$ ) zugesetzt.

Die saure wässrige Methanollösung wird unter  $25^{\circ}$  gekühlt, einem Dispergierbehälter von genügendem Fassungsvermögen zugeführt und die behandelten Kollagenscheiben ebenfalls dem Dispergierbehälter zugesetzt, während der Rührer mit etwa 60 Umdrehungen/Minute arbeitet. Es ist wichtig, daß die restlichen Verfahrensstufen bei Temperaturen unter  $25^{\circ}$  ausgeführt werden und daß die Temperatur der Kollagendispersion nicht über diese Temperatur ansteigt.

Das Rühren wird 3 Stunden fortgesetzt, wobei die einzelnen Kollagenscheiben aufgequollen werden. Die Dispersion wird dann durch wiederholtes Umpumpen durch die rotierende Meßpumpe aus rostfreiem Stahl, wie oben beschrieben, homogenisiert. Die in

./.

Reihe angeordneten Düsen aus rostfreiem Stahl besitzen Öffnungen von 0,076 cm bzw. 0,102 cm. Während der Homogenisierung wird der Rührer im Dispergierbehälter ununterbrochen bewegt.

Der Druck auf der Seite höheren Druckes der Homogenisierungsdüsen fällt auf 4,921 at und bleibt nach 3 Stunden konstant, wodurch im wesentlichen eine vollständige Homogenisierung angezeigt wird. Die Dispersion wird dann durch 0,127 cm und 0,102 cm-Düsen in ein Plattenfilter mit drei Sieben aus rostfreiem Stahl (Nr. 316) gepreßt. Diese Siebe sind voneinander getrennt durch 0,32 cm Abstandshalter, und die Maschengröße nimmt so ab, daß die Dispersion zuerst ein Sieb von 0,036 cm, dann ein Sieb von 0,023 und schließlich ein 0,010 cm Sieb passiert. Während der Filtrationsstufe wird der Druck auf dem Filter unterhalb 2,812 at ständig aufrechterhalten.

Die Dispersion der gelösten Kollagenfasern enthält nach Filtration nahezu 11000 Teile (0,9 % Feststoffe). 600 Teile des Materials werden auf dem Filter zurückgehalten. Die Dispersion bildet eine undurchsichtige, thixotrope Masse, die bei Raumtemperatur einen sehr viskosen langsam fließenden Zustand annimmt. Bei 15° besitzt die Viskosität der Dispersion, bestimmt mit einem Viskositätsmesser "Plastigraph" der Brabender Corporation 440 Brabender Einheiten. Die Dispersion kann mit Glycerin verglichen werden, das bei 7,5° eine Viskosität von 51 Poises besitzt und einen Wert von 420 Brabender Einheiten in

./.

der "Plastigraph"-Vorrichtung anzeigt. Viskositätsbestimmungen dieser Dispersion bei anderen Temperaturen sind in der nachfolgenden Tabelle 1 aufgeführt. Durch Auftragen des Logarithmus der Konsistenz gegen den reziproken Wert der absoluten Temperatur ersieht man, daß irgendeine irreversible physikalische Änderung zwischen  $30^{\circ}$  und  $35^{\circ}$  eintritt.

Tabelle 1

Konsistenz	Temperatur $^{\circ}\text{C}$	Log.Konsistenz	$1/T \times 10^4$
440	15	2.644	34.70
360	20	2.556	34.11
319	25	2.504	33.54
283	30	2.452	32.99
123	35	2.090	32.45
33	40	1.518	31.93

Die Aktivierungsenergie der Dispersion gemäß diesem Beispiel, berechnet aus den Daten in Tabelle 1, beträgt 5,3 kcal pro Mol unterhalb der Übergangstemperatur von etwa  $34^{\circ}$ . Oberhalb  $34^{\circ}$  beträgt die Aktivierungsenergie 40 kcal pro Mol.

Die Kollagendispersion dieses Beispiels wird durch Ausfrieren getrocknet und unter dem Elektronenmikroskop fotografiert. Ein charakteristisches Infrarotspektrum der Dispersion gemäß diesem Beispiel erhält man durch Gießen eines dünnen Films und durch Bestimmung der Fortpflanzung des luftgetrockneten Films mit einem Perkin-Elmer Infrarot-Spektrofotometer.

./.



Die erhaltene Dispersion kann unter milden Bedingungen getrocknet werden, um sehr reine Kollagenfasern zu erhalten.

2) Es wird eine Kollagendispersion bereitet aus 1500 Teilen von Sehnenscheiben, die mit 15000 Teilen einer Lösung von 15 Teilen Ficin, 3,63 Teilen des Dinatriumsalzes von Äthylendiamintetraessigsäure und 1,95 Teilen Äthylendiamintetranatriumtetraacetat behandelt werden. Das pH dieser Lösung beträgt 5,1 vor dem Zusatz der Sehnenscheiben; nach dem Zusatz der Scheiben beträgt das pH der Enzymlösung 6,3. Nach 17-stündigem Stehen bei Raumtemperatur 24,4° wird die Enzymlösung dekantiert und die Scheiben werden mit 15000 Teilen Wasser, dem 50 Teile 30-%iges Wasserstoffperoxyd zugesetzt sind, gerührt. Die Wasserstoffperoxydlösung wird von den Sehnenscheiben nach etwa 20 Minuten dekantiert.

Die Aufquelllösung besteht aus 148,1 Teilen Perfluorbuttersäure und einer Mischung von 17019 Teilen Wasser und 24132 Teilen Methanol. Perfluorbuttersäure wird in einer Menge von 19,5 Gewichtsprozent der trockenen Sehnenfeststoffe, gleich 0,264 % des Gesamtgewichtes, angewandt. Die errechneten Trockenfeststoffe betragen 1,1 % des Gesamtgewichts (Feststoffe und Aufquellungslösung).

./.

Die getrockneten Sehnenscheiben werden der Perfluorbuttersäure-Aufquelllösung zugesetzt und auf  $20^{\circ}$  abgekühlt und die Lösung 1 1/2 Stunde durch Lufteinblasen durch die Mischung gerührt. Die Mischung wird dann 1 Stunde lang mit 40 Umdrehungen/Minute gerührt, während die wässrige saure Methanollösung unter  $25^{\circ}$  gehalten wird. Die Suspension von aufgequollenen Sehnenscheiben wird dann durch Umpumpen der Suspension durch ein 1,27 starkes Rohr homogenisiert.

Da die Viskosität der so erhaltenen Dispersion (ungefähr 1,1 % Feststoffe) noch zu hoch ist, werden die Gesamtfeststoffe auf ungefähr 0,9 % durch Zusatz von 5400 Teilen Wasser, 5400 Teilen Methanol und 9,7 Teilen Perfluorbuttersäure verringert. Die verdünnte Dispersion wird dann durch die 0,32 cm-Düsen gepumpt, darauf durch eine 0,152 cm-Düse, dann durch eine 0,127 cm-Düse und schließlich durch eine 0,102 cm-Düse gepumpt (2 volle Durchgänge). Die Temperatur der Dispersion wird während der Homogenisierungsstufe unterhalb  $25^{\circ}$  gehalten.

Die so erhaltene Dispersion wird über Nacht bei  $23^{\circ}$  ohne Rühren stehen gelassen. Am nächsten Morgen wird die Dispersion 1/2 Stunde bei 40 Umdrehungen/Minute gerührt und dann durch ein Plattenfilter mit 0,038 cm, 0,023 cm und 0,014 cm-Sieben gepreßt. Während dieser Filtrationsstufe überschreitet der Druck auf dem Filter nicht 2,813 at. Die Dispersion vom Filter

./.

(pH 2,80) wird unter Vakuum entlüftet. Die homogenisierte und durch Siebe gepresste Dispersion wird in ein Methyläthylketon-Spinbad gesponnen, das 8 cm<sup>3</sup> eines analysenreinen Ammoniumhydroxydreagens (28 bis 30 % NH<sub>3</sub>) in 10 Liter Methyläthylketon enthält. Die Pumpe wird mit 8,9 Umdrehungen/Minute betrieben, um etwa 2,64 cm<sup>3</sup> der Dispersion pro Minute auszuspritzen.

3) Eine nach dem Verfahren des vorangehenden Beispiels bereitete Kollagen dispersion wird mit 15000 Teilen einer wässrigen Lösung (pH 6,0) aus 3 Teilen (0,2 %) Ficin, 3,63 Teilen Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure und 1,95 Teilen Äthylendiamintetranatriumtetraacetat behandelt. Die Sehnen scheiben enthalten 35,3 Gewichtsprozent trockene Feststoffe; das Gesamtgewicht an Sehnenfeststoff, bezogen auf das trockene Gewicht, beträgt 529,5 g.

Nach 17-stündigem Stehen bei Raumtemperatur wird die Ficinlösung von den Scheiben abdekantiert und die Scheiben 20 Minuten mit 1500 Teilen Wasser gerührt, das 50 cm<sup>3</sup> 30 %iges Wasserstoffperoxyd enthält. Das pH dieser Lösung ist 6,0 bis 6,3, nachdem die Scheiben zugesetzt sind. Die Wasserstoffperoxydlösung wird dekantiert; die Sehnen scheiben getrocknet und 29150 Teile Methanol, 22079,5 Teile Wasser und 156,3 Teile Perfluorbuttersäure zugegeben. Die zugesetzte Perfluorbuttersäure beträgt

19,5 Gewichtsprozent der trockenen Feststoffe oder 0,266 % des Gesamtgewichts der Mischung. Die Mischung wird eine Stunde lang gerührt, während die Temperatur unter 25° gehalten wird.

Die aufgequollenen Sehnenscheiben werden durch ein 1,27 cm Rohr gepumpt und die gekühlte Dispersion dann durch eine 0,32 cm weite Öffnung, eine 0,152 cm weite Öffnung und eine 0,127 cm weite Öffnung gepumpt. Schließlich wird die Dispersion zweimal durch eine 0,102 cm Öffnung hindurchgeleitet. Die Dispersion wird über Nacht bei 23° aufbewahrt und dann durch ein Plattenfilter mit drei Sieben zu 0,038, 0,023 und 0,014 cm filtriert. Der Filtrationsdruck überschreitet nicht 13,6 at, und die Temperatur wird währenddessen auf 15 bis 23° gehalten. Die Luft wird aus der Dispersion unter Vakuum entfernt. Das End-pH beträgt 2,75 und der Feststoffgehalt 0,90 %.

P 16 94 509.8

Ethicon, Inc.

Oppenau, den 9.3.1970

Mein Zeichen:

4386

Dr. Sch/H

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Verfahren zum Herstellen einer für das Spinnen von Kollagenfäden geeigneten Kollagendispersion, welche die aus tierischen Sehnen gewonnenen Kollagenfibrillen in möglichst wenig abgebauter Form enthält und in welcher zu diesem Zweck das zerkleinerte tierische Material etwa bei Zimmertemperatur in einer wässrigen Säurelösung quellen gelassen, dispergiert und auf mechanischem Wege homogenisiert wird, dadurch gekennzeichnet, daß das Quellenlassen und Dispergieren in der wässrigen Lösung einer Perfluorsäure mit 2 bis 8 Kohlenstoffatomen der Formel  $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n \text{COOH}$ , in der n eine ganze Zahl zwischen 0 und 6 bedeutet, vorgenommen wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zum Quellen eine wässrige Lösung von Perfluorbuttersäure einer Konzentration von 0,2 bis etwa 1 %, bezogen auf das Gesamtgewicht der Lösung, mit einem pH-Wert von 2 bis 3, gegebenenfalls unter Zusatz von Methanol, verwendet wird, wobei der Gehalt an tierischen Sehnen vorzugsweise bei 1 % liegt.

109823/1837

Dr. REINHOLD SCHMIDT, 7603 OPPENAU, Postfach 25, Allmendplatz 4, Telefon (07804) 710

Bankverbindungen: Rendelbank (Volksbank) Oppenau Konto-Nr. 648 / Bankhaus Paul Kapff, Stuttgart Konto-Nr. 2644 / Postsparkonto: Karlsruhe Nr. 65015

Münchener Büro: Patentanwälte LICHT, HANSMANN, HERRMANN